BULLETIN
du MUSÉUM NATIONAL
d'HISTOIRE NATURELLE

PUBLICATION BIMESTRIELLE

sciences physico-chimiques

10

N° 423 NOVEMBRE-DÉCEMBRE 1976

BULLETIN
du
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

57, rue Cuvier, 75005 Paris

Le *Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle*, revue bimestrielle, paraît depuis 1895 et publie des travaux originaux relatifs aux diverses branches de la Science.

Les tomes 1 à 34 (1895-1928), constituant la 1re série, et les tomes 1 à 42 (1929-1970), constituant la 2e série, étaient formés de fascicules regroupant des articles divers.

A partir de 1971, le *Bulletin* 3e série est divisé en six sections (Zoologie — Botanique — Sciences de la Terre — Sciences de l'Homme — Sciences physico-chimiques — Écologie générale) et les articles paraissent, en principe, par fascicules séparés.

S'adresser :

— pour les **échanges**, à la Bibliothèque centrale du Muséum national d'Histoire naturelle, 38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire, 75005 Paris (C.C.P., Paris 9062-62) ;

— pour les **abonnements** et les **achats au numéro**, à la Librairie du Muséum, 36, rue Geoffroy-Saint-Hilaire, 75005 Paris (C.C.P., Paris 17591-12 — Crédit Lyonnais, agence Y-425) ;

— pour tout ce qui concerne la **rédaction**, au Secrétariat du *Bulletin*, 57, rue Cuvier, 75005 Paris.

Abonnements pour l'année 1977

Abonnement général : France, 530 F ; Étranger, 580 F.

Zoologie : France, 410 F ; Étranger, 450 F.

Sciences de la Terre : France, 110 F ; Étranger, 120 F.

Botanique : France, 80 F ; Étranger, 90 F.

Écologie générale : France, 70 F ; Étranger, 80 F.

Sciences physico-chimiques : France, 25 F ; Étranger, 30 F.

International Standard Serial Number (ISSN) : 0027-4070.

BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
3e série, nº 423, novembre-décembre 1976, Sciences physico-chimiques 10

Xanthones trisubstituées en 1-3-7 de *Gentiana ciliata* L. Séparation chromatographique de deux isomères : gentisine et isogentisine

par Marcel MASSIAS, Jacques CARBONNIER et Darius MOLHO *

Résumé. — Dix xanthones ont été trouvées dans les fleurs de *Gentiana ciliata* L. Ces composés se subdivisent en deux groupes : les xanthones tétrasubstituées en 1-3-7-8 [gentiaeauléine (I), gentiakoehianine (II), décussatine (III), swertiapérénine (IV), gentiacauloside (V), primevéroside de décussatine (VI)] et les xanthones trisubstituées en 1-3-7 [gentisine (VII), isogentisine (VIII) hydroxy-1 diméthoxy-3, 7 xanthone (IX) et gentiséine (X)].

Par ailleurs, une méthode chromatographique permettant de séparer la gentisine de l'isogentisine a été mise au point.

Abstract. — Ten xanthones were found in the flowers of *G. ciliata* L. These compounds fell into two groups : tetrasubstituted (1-hydroxy 3, 7, 8-trimethoxy xanthone ; 1, 7-dihydroxy 3, 8-dimethoxy xanthone ; 1, 7, 8-trihydroxy 3-methoxy xanthone ; 1, 8-dihydroxy 3, 7-dimethoxy xanthone ; 1-primeveroside 7-hydroxy 3, 8-dimethoxy xanthone ; 1-primeveroside 3, 7, 8-trimetoxy xanthone) and trisubstituted xanthone -9 ones (1-hydroxy 3, 7-dimethoxy xanthone ; 1, 7-dihydroxy 3-methoxy xanthone ; 1, 3-dihydroxy 7-methoxy xanthone ; 1, 3. 7-trihydroxy xanthone).

A chromatographic method was devised which allowed 1, 7-dihydroxy 3-methoxy xanthone and isomeric 1, 3-dihydroxy 7-methoxy xanthone to be distinguished.

INTRODUCTION

Dans un travail précédent (JÖSSANG *et al.*, 1972) nous faisions remarquer que le schéma de substitution des xanthones rencontrées chez *Gentiana* était, dans une certaine mesure, caractéristique des sections de ce genre :

— *Coelanthe* : xanthones substituées en 1-3-7 (cf. BELLMANN et JACOT-GUILLARMOD, 1972 ; HOSTETTMANN et JACOT-GUILLARMOD, 1975 ; VERNET et DEBELMAS, 1973 ; RIVAILLE et RAULAIS, 1969).

— *Thylacites* : xanthones substituées en 1-3-7-8 (cf. CARBONNIER *et al.*, 1972).

— *Cyclostigma* : xanthones substituées en 1-3-7-8 (cf. HOSTETTMANN *et al.*, 1974 ; HOSTETTMANN et JACOT-GUILLARMOD, 1974).

— *Amarella* : xanthones substituées en 1-3-5-8 et 1-3-4-5-8 (cf. KALDAS *et al.*, 1974 et 1975).

* *Laboratoire de Chimie appliquée aux Corps organisés, Muséum National d'Histoire naturelle, 63, rue de Buffon, 75005 Paris.*

— *Antartica* : xanthones substituées en 1-3-5-8 et 1-3-4-5-8 (cf. Roberts, 1961 ; Markham, 1964, 1965*a*, 1965b).

— *Crossopetalum* : xanthones substituées en 1-3-7-8 (Carbonnier *et al.*, 1972).

Les trois dernières sections appartiennent au sous-genre *Gentianella* Kuzn. ; or, si l'on excepte la section *Crossopetalum* où un seul exemple (*G. ciliata*) a été étudié, la sous-section paraît caractérisée par la présence de xanthones substituées en 5 (contrairement au sous-genre *Gentiana* qui se caractérise par la présence de xanthones substituées en 7).

Gentiana ciliata, appartenant au même sous-genre *Gentianella*, présente de par ses constituants inattendus, un certain intérêt chimiotaxonomique. C'est la raison pour laquelle, nous avons souhaité examiner les xanthones minoritaires présentes à côté de celles, en quantités plus importantes [gentiacauléine (V) gentiakochianine (II) décussatine (III) gentiacauloside (V) et primevéroside de decussatine (VI)], que nous avions mises en évidence précédemment (cf. Carbonnier *et al.*, 1972). L'identification de cinq autres xanthones isolées des fleurs de cette espèce fait l'objet du présent travail.

Matériel et méthodes

La population de *G. ciliata* étudiée a été récoltée en octobre 1975 dans les sous-bois situés sur « la petite côte » qui domine le village de Montier en l'Isle (Aube). Un exsiccata de référence est déposé dans l'herbier du Laboratoire de Chimie du Muséum de Paris.

Les fleurs (calices et corolles) sont séparées du reste de la plante et séchées à 40°C à l'étuve.

Après broyage, le matériel (5 g) est extrait au Soxhlet pendant 48 heures par du benzène puis par de l'éthanol à 95 %. Ces extraits sont ensuite soumis à un fractionnement chromatographique.

Les xanthones naturelles ayant fréquemment des Rf très proches nous avons été amenés à utiliser 8 systèmes différents de chromatographie sur couche mince, pour définir chacune d'elles sans ambiguïté. Ces systèmes sont décrits en détail dans la partie expérimentale.

La séparation chromatographique de la gentisine et de l'isogentisine a posé quelques problèmes et nous avons été conduits à mettre au point une technique permettant de caractériser des traces de ces deux monométhoxy, dihydroxy xanthones lorsqu'elles coexistent toutes deux dans le même extrait.

Une chromatographie sur couche mince, au moyen d'un film de silice Polygram (Macherey, Nagel et C°) et d'un solvant composé de chlorure de méthylène et d'alcool méthylique, 99,5/0,5, entraîne un déplacement différent de ces deux composés (Rf. gentisine = 0,06 ; Rf. isogentisine = 0,13).

Ces deux xanthones sont alors révélables sans ambiguïté par la technique de Verney et Debelmas (1973) qui consiste en une pulvérisation de potasse alcoolique à 5 %. La gentisine fluoresce en jaune orangé sous la lumière de Wood, tandis que l'isogentisine apparaît colorée en vert très sombre sous la lumière visible violette émise par la lampe à vapeur de mercure.

Résultats

L'extrait brut benzénique est chromatographié sur une colonne de gel de silice au moyen de chloroforme, progressivement enrichi (de 1 à 5 %) en méthanol.

Quatre fractions xanthoniques sont ainsi obtenues : la première permet d'isoler la décussatine (III) qui est purifiée par recristallisation ; la deuxième conduit, de la même manière, à l'obtention de la gentiakochianine (II) et la troisième à la gentiacauléine (I).

Une chromatographie sur couche mince des eaux-mères des deux fractions de tête révèle alors la présence de deux autres xanthones (A et B) qui sont obtenues par chromatographie sur couche épaisse de gel de silice au moyen du mélange toluène/acide acétique, 85/15.

Les spectres UV avec étude des déplacements par l'acétate de sodium, le chlorure d'aluminium suivi d'addition d'acide chlorhydrique, devaient montrer que ces deux xanthones ne possédaient pas d'hydroxyle libre en 3, que l'une d'entre elles (B) possédait un hydroxyle en péri (1 ou 8) et l'autre (A) deux hydroxyles en péri (1 et 8). Les spectres UV excluaient, d'autre part, un schéma de substitution 1-3-5-8.

Le spectre de masse de A montrait qu'il s'agissait d'une xanthone tétrasubstituée diméthylée et dihydroxylée ; compte tenu du spectre UV, il ne pouvait être question que de la swertiapérénine (IV.) Le point de fusion mélangé avec un échantillon obtenu par Rivaille et Raulais (1969) à partir de *Swertia perennis* L. n' était pas abaissé, ce qui confirmait la structure IV pour le dérivé A.

Le spectre de masse de B indiquait qu'il s'agissait d'une xanthone trisubstituée et possédant un méthoxyle sur chaque cycle aromatique. L'hydroxy-1 diméthoxy-3,7 et l'hydroxy-1 diméthoxy-3,5 xanthones sont les seules substances naturelles pouvant correspondre à ces données spectrales (UV et masse).

Nous avons préparé l'hydroxy-1 diméthoxy-3,7 xanthone (IX) par méthylation au diazométhane de l'isogentisine (VIII). Le produit obtenu s'est montré en tous points identique (PF mélangé, spectre UV, masse, cochromatographie) à celui isolé de *G. ciliata*.

Une chromatographie sur couche mince (solvant : chloroforme, méthanol 98/2 ; support : gel de silice) de la quatrième fraction de la chromatographie sur colonne montrait la présence de deux autres constituants xanthoniques : le premier a été identifié comme étant de la gentisine (X) par comparaison avec un échantillon obtenu par synthèse selon Grover *et al.* (1955) ; le second s'est avéré être un mélange de gentisine et d'isogentisine (VIII). Ces deux isomères ont été séparés et caractérisés au moyen du système chromatographique mis au point par nous et décrit plus haut.

Ces deux derniers constituants de *G. ciliata* étaient cependant en quantité trop faible pour que nous puissions les recristalliser. Ils ont donc été identifiés par chromatographie (dans cinq systèmes différents) avec des échantillons préparés dans ce but : la gentisine (VII) a été isolée des racines de *G. lutea* selon Henry et Caventou (1821) et l'isogentisine (VIII) a été synthétisée selon Grover *et al.* (1955).

Dans l'extrait alcoolique, nous n'avons trouvé comme xanthones que le gentiacauloside (V) et le primevéroside de décussatine (VI) déjà signalés dans la plante. Il est à noter que nous n'avons pas rencontré de glycosides de xanthones trisubstituées en 1-3-7 (comme chez *G. lutea*) ni de glucosides (comme c'est le cas, généralement, chez les *Gentianella*).

Xanthones des fleurs de *Gentiana ciliata* L.

		R_1	R_3	R_7	R_8
I	gentiacauléine	OH	$O\text{-}CH_3$	OH	$O\text{-}CH_3$
II	gentiakochianine	OH	$O\text{-}CH_3$	OH	OH
III	décussatine	OH	$O\text{-}CH_3$	$O\text{-}CH_3$	$O\text{-}CH_3$
IV	swertiapérénine	OH	$O\text{-}CH_3$	$O\text{-}CH_3$	OH
V	gentiacauloside	O-primevérosyle	$O\text{-}CH_3$	OH	$O\text{-}CH_3$
VI	primevéroside de décussatine	O-primevérosyle	$O\text{-}CH_3$	$O\text{-}CH_3$	$O\text{-}CH_3$
VII	gentisine	OH	$O\text{-}CH_3$	OH	H
VIII	isogentisine	OH	OH	$O\text{-}CH_3$	H
IX	hydroxy-1 diméthoxy-3,7 xanthone	OH	$O\text{-}CH_3$	$O\text{-}CH_3$	H
X	gentiséine	OH	OH	OH	H

Conclusions

Parmi les dix xanthones que contiennent les fleurs de *G. ciliata*, six sont tétrasubstituées en 1-3-7-8 (I à VI) et quatre sont trisubstituées en 1-3-7 (VII à X).

Il n'a pas été possible de mettre en évidence des dérivés xanthoniques substitués en 1-3-5-8, schéma de substitution qui pourtant s'est avéré exister chez toutes les gentianelles étudiées (cf. Carbonnier *et al.*, 1976). Les autres organes de la plante ne semblent pas avoir une composition en xanthones très différente : en effet I, II, III, IV, VII et IX ont été isolés de la racine de cette espèce.

Enfin, la coexistence des deux schémas de substitution 1-3-7 et 1-3-7-8 n'est pas liée à un écotype particulier de l'espèce puisque l'analyse du matériel récolté en juillet dans la région de Sion (Suisse) s'est révélée identique à celle du matériel collecté en Champagne, en octobre.

La présence de ces deux schémas de substitution et l'absence de xanthone substituée en 1-3-5-8, toujours présente dans les autres gentianelles (cf. Carbonnier *et al.*, 1976) confèrent à *G. ciliata* une place très particulière au sein du genre.

Remerciements

Nous remercions MM. J. P. Brouard et D. Davoust, responsables des Services de Spectrométrie de masse et de RMN, pour leur participation à ce travail, ainsi que M. P. Jössang pour le support documentaire qu'il nous a fourni à tous moments.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

1. Systèmes chromatographiques

a — *Supports*

Gel de silice pour A, H, M, P, S, Z (film Polygram Macherey, Nagel et C°, Sil. G UV 254).

Polyamide pour E et K (film Polygram Macherey, Nagel et C°, Polyamide-6 UV 254).

b — *Solvants* (V/V)

A — cyclohexane-acétate d'éthyle 75/25.

E — méthanol-eau 90/10.

H — chloroforme-méthanol 98/2.

K — toluène-méthanol-acide acétique 45/32/16.

M — toluène-acide acétique 85/15.

P — chloroforme-benzène-méthanol 49,5/47,5/1.

S — benzène-méthanol-acétate d'éthyle 50/25/15.

Z — chlorure de méthylène-méthanol 99,5/0,5.

2. Préparation de produits de référence

Acide hydroxy-2 méthoxy-5 benzoïque : obtenu par méthylation de l'acide gentisique par le sulfate de méthyle selon Graebe et Martz (1905). Rdt. 90 %, F. 145°C après recristallisation dans l'éthanol à 70 %.

Isogentisine (dihydroxy-1,3 méthoxy-7 xanthone, VIII) : obtenue par condensation de l'acide hydroxy-2 méthoxy-5 benzoïque sur le phloroglucinol en présence de chlorure de zinc et d'oxychlorure de phosphore (Grover *et al.*, 1955), F. 240°C (recrist. éthanol 90 %).

Gentiséine (trihydroxy-3,7 xanthone, X) : obtenue par condensation entre le phloroglucinol et l'acide dihydroxy-2,5 benzoïque selon Grover *et al.* (1955).

Gentisine (dihydroxy-1,7 méthoxy-3 xanthone, VII) : obtenue par extraction de la racine de *G. lutea* selon Henry et Caventon (1824), F. 274°C (recrist. benzène).

Hydroxy-1 diméthoxy-3,7 xanthone, IX : obtenue par méthylation de l'isogentisine (VIII) au moyen d'une solution éthérée de diazométhane. 45 mg. d'isogentisine sont traités par le diazométhane durant 10 mn, on concentre sous vide, on recristallise dans l'éthanol F. 168°C (litt. 168°C).

3. Appareillage

Les spectres UV ont été enregistrés sur l'appareil Acta C III Beckman, les spectres de RMN sur le A 60 Varian et les spectres de masse sur le THN 208 Thomson.

4. Données analytiques

(I) — *Gentiacauléine* : F. 92°C (recrist. éthanol 70 %). UV : max. (MeOH) 370, 308, 262, 238 nm. Masse : M/e 288 (M+) 270, 259, 245, 214, 202. RMN : H_2 et H_4, 6, 39 ; H_5 : 7, 20 ; H_6 : 7, 41 ; OCH_3 : 3, 90 et 4,08 ; OH : 13,22 ppm. Chrom. Rf 0,62 (syst. H) ; 0,33 (syst. A) 0,52 (syst. M) ; 0,25 (syst. P). Identique en tous points (spectres, PF. mélangé, cochromatographie) avec un échantillon authentique provenant de *G. kochiana* et isolé par PLOUVIER *et al.* (1967).

(II) — *Gentiakochianine* : F. 227°C (recrist. benzène). UV : max. (MeOH) 324, 265, 239 nm. Masse : M/e 274 (M+), 273, 246, 245, 231, 216. Chrom. Rf. 0,76 (syst. H), 0,23 (syst. A) 0,62 (syst. M), 0,44 (syst. P). Identique en tous points à une échantillon authentique isolé par GUYOT *et al.* (1968).

(III) — *Décussatine* : F. 151°C (recrist. éthanol). UV : max. (MeOH) 378, 312, 260, 240 nm. Masse : M/e 302 (M+) 287, 273, 272, 259. RMN : H_2 et H_4 : 6,31 ; H_5 7,14 ; H_6 : 7,35 ; OCH_3 : 3,89 et 3,93 ; OH : 13,30 ppm. Chrom. Rf. 0,85 (syst. H), 0,34 (syst. A) ; 0,57 (syst. M) ; 0,54 (syst. P). Identique en tous points avec un échantillon de référence.

(IV) — *Swertiapérénine* : F. 190°C (recrist. éthanol). UV : max. (MeOH) 202, 232, 260, 310, 375 nm. (MeOH + Cl_3Al) : 205, 227, 273, 325, 362. (MeOH + Cl_3Al + HCl) : 202, 235, 262, 315, 375 nm. ; pas de déplacement par l'acétate de sodium. Masse : M/e 288 (M+), 273, 259, 258, 245, 202. Chrom. Rf. 0,88 (syst. H) ; 0,66 syst. M). Identique en tous points à un échantillon extrait de *Swertia perennis* par RIVAILLE et RAULAIS (1969).

(V) — *Gentiacauloside* : F. 225°C (recrist. éthanol à 90 %). UV : max. (MeOH) 363, 304, 255, 238 nm. (MeOH : + Cl_3Al) 370, 312, 252, 240 nm. RMN : H_2 : 6,77 ; H_4 : 6,85 ; H_5 : 7,20 ; H_6 : 7,39 ; OCH_3 : 3,85 et 3,93 ; OH : 13,27 ppm. Chrom. Rf 0,26 (syst. E). Identique à un échantillon authentique isolé par PLOUVIER *et al.* (1967).

(VI) — *Primevéroside de décussatine* : F. (litt.) 192°C. Chrom. Rf. 0,90 (syst. E) ; 0,85 (syst. K) ; 0,80 (syst. S). Identification effectuée par cochromatographie dans trois systèmes différents avec un échantillon authentique isolé par RIVAILLE et RAULAIS (1969) de *C. verna*.

(VII) — *Gentisine* : F. 274°C (recrist. benzène). UV : max. (MeOH) 205, 236, 260, 305, 375 nm. Masse M/e 258 (M+), 257, 230, 229, 228, 215 [1]. Chrom. Rf 0,06 (syst. Z) ;

1. Ces données ont été établies sur l'échantillon de gentisine isolé de *G. lutea*.

0,38 (syst. H) ; 0,29 (syst. A) ; 0,40 (syst. M) ; 0,20 (syst. P). Identification effectuée par cochromatographie dans cinq systèmes différents avec un échantillon extrait de *C. lutea.*

(VIII) — *Isogentisine* : F. 240°C (recrist. éthanol à 90 %). UV : max. (MeOH) 208, 236, 311, 370 nm. Chrom. Rf 0,13 (syst. Z) ; 0,38 (syst. H) ; 0,40 (syst. M) ; 0,20 (syst. P) ; 0,29 (syst. A).

(IX) — *hydroxy-1 diméthoxy-3,7 xanthone* : F. 168°C (recrist. éthanol). UV : max. (MeOH) 205, 234, 258, 307, 370 nm (MeOH + Cl_3Al) 205, 228, 262, 315, 375 nm. (MeOH + Cl_3Al + HCl) 201, 232, 270, 320, 365 nm. Pas de déplacement par l'acétate de sodium. Masse : M/e 272 (M+) 257, 243, 242, 229, 211, 171, 143, 150, 136, 107.

(X) — *gentiséine* : F. 318°C (recrist. acétate d'éthyle). UV max. (MeOH) 220, 238, 260, 310, 373 nm. Chrom. Rf 0,25 (syst. H) ; 0,27 (syst. M).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BELLMANN, G., A. JACOT-GUILLARMOD, 1972, *Helv. chim. Acta*, **56** : 284.

CARBONNIER, J., M. MASSIAS, M. C. JARREAU-CARBONNIER et D. MOLHO, 1972, *Travaux Lab. de la Jaysinia*, **4** : 169.

CARBONNIER, J., M. MASSIAS et D. MOLHO, 1976, *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris (sous presse).*

GRAEBE, C., et E. MARTZ, 1905, *Ann.* **340** : 213.

GROVER, P. K., G. D. SHAH et R. C. SHAH, 1955, *J. chem. Soc.* : 3982.

GUYOT, M., J, MASSICOT et P. RIVAILLE, 1968, *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, série C, **267** : 423.

HENRY, L. et J. B. CAVENTOU, 1821, *J. Pharm. Chim.* : 178.

HOSTETTMANN, K., R. TABACCHI et A. JACOT-GUILLARMOD, 1974, *Helv. chim. Acta*, **57** : 294.

HOSTETTMANN, K., et A. JACOT-GUILLARMOD, 1974, *Helv. chim. Acta*, **57** : 1155.

JÖSSANG, P., J. CARBONNIER et D. MOLHO, 1972, *Trav. Lab. Jaysinia*, **4** : 143.

KALDAS, M., K. HOSTETTMANN et A. JACOT-GUILLARMOD, 1974, *Helv. chim. Acta*, **57** : 2557.

KALDAS, M., K. HOSTETTMANN et A. JACOT-GUILLARMOD, 1975, *Helv. chim. Acta*, **58** : 2188.

MARKHAM, K. R., 1964, *Tetrahedron*, **20** : 991.

MARKHAM, K. R., 1965*a*, *Tetrahedron*, **21** : 1449.

MARKHAM, K. R., 1965*b*, *Tetrahedron*, **21** : 3687.

PLOUVIER, V., J. MASSICOT et P. RIVAILLE, 1967, *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, série D **264** : 1219.

RIVAILLE, P., et D. RAULAIS, 1969, *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, série D, **269** : 1121.

ROBERTS, J. C., 1961, *Chem. Rev.* : 591.

STEFANOU, E., K. HOSTETTMANN et A. JACOT-GULLARMOD, 1976, *Phytochemistry*, **15** : 330.

VERNEY, A. M. et A. M. DEBELMAS, 1973, *Ann. pharm. fr.*, **31** (6) : 415.

Manuscrit déposé le 6 juillet 1976.

Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris, 3e sér., nov.-déc. 1976, no 423,
Sciences physico-chimiques 10 : 45-52.

Achevé d'imprimer le 28 février 1977.

IMPRIMERIE NATIONALE

6 564 004 5

Recommandations aux auteurs

Les articles à publier doivent être adressés directement au Secrétariat du *Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle*, 57, rue Cuvier, 75005 Paris. Ils seront accompagnés d'un résumé en une ou plusieurs langues. L'adresse du Laboratoire dans lequel le travail a été effectué figurera sur la première page, en note infrapaginale.

Le *texte* doit être dactylographié à double interligne, avec une marge suffisante, recto seulement. Pas de mots en majuscules, pas de soulignages (à l'exception des noms de genres et d'espèces soulignés d'un trait).

Il convient de numéroter les *tableaux* et de leur donner un titre ; les tableaux compliqués devront être préparés de façon à pouvoir être clichés comme une figure.

Les *références bibliographiques* apparaîtront selon les modèles suivants :

Bauchot, M.-L., J. Daget, J.-C. Hureau et Th. Monod, 1970. — Le problème des « auteurs secondaires » en taxionomie. *Bull. Mus. Hist. nat., Paris*, 2e sér., 42 (2) : 301-304.

Tinbergen, N., 1952. — The study of instinct. Oxford, Clarendon Press, 228 p.

Les *dessins* et *cartes* doivent être faits sur bristol blanc ou calque, à l'encre de chine. Envoyer les originaux. Les *photographies* seront le plus nettes possible, sur papier brillant, et normalement contrastées. L'emplacement des figures sera indiqué dans la marge et les légendes seront regroupées à la fin du texte, sur un feuillet séparé.

Un auteur ne pourra publier plus de 100 pages imprimées par an dans le *Bulletin*, en une ou plusieurs fois.

Une seule épreuve sera envoyée à l'auteur qui devra la retourner dans les quatre jours au Secrétariat, avec son manuscrit. Les « corrections d'auteurs » (modifications ou additions de texte) trop nombreuses, et non justifiées par une information de dernière heure, pourront être facturées aux auteurs.

Ceux-ci recevront gratuitement 50 exemplaires imprimés de leur travail. Ils pourront obtenir à leur frais des fascicules supplémentaires en s'adressant à la Bibliothèque centrale du Muséum : 38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire, 75005 Paris.


MUSEUM
NATIONAL
D'HIST. NAT.